

# L'utilisation d'une formulation à base de *Bacillus thuringiensis* H14 dans la lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest

## 1 — Efficacité et modalités d'application <sup>(1)</sup>

Pierre GUILLET <sup>(2)</sup>

Henri ESCAFFRE <sup>(3)</sup>

Jean-Michel PRUD'HOM <sup>(3)</sup>

### Résumé

L'apparition d'une résistance aux insecticides organo-phosphorés chez les larves du complexe *S. damnosum* fait du *Bacillus thuringiensis* H14 le seul larvicide de remplacement actuellement utilisable pour le traitement des zones de résistance. La formulation Teknar<sup>®</sup> (Sandoz) a été testée lors d'essais à échelle réduite et en rivière et ses modalités pratiques d'utilisation ont été précisées. Son utilisation opérationnelle, si elle est déjà possible, nécessite une adaptation des dispositifs d'application utilisés dans les traitements de routine à l'Abate<sup>®</sup>. Il apparaît indispensable d'augmenter l'efficacité du Teknar et d'améliorer ses caractéristiques physiques.

**Mots-clés :** Complexe *S. damnosum* — Onchocercose — *Bacillus thuringiensis* H14 — Efficacité — Utilisation opérationnelle.

### Summary

THE USE OF A *Bacillus thuringiensis* H14 FORMULATION FOR ONCHOCERCIASIS CONTROL IN WEST AFRICA.  
I — EFFICACY AND USE MODALITIES

*Bacillus thuringiensis* H14 has been proved to be an excellent biocontrol agent for black fly larvae, especially for *Simulium damnosum* complex larvae, the onchocerciasis vectors in Africa. As *S. damnosum* larvae had developed a strong resistance to organophosphorus compounds, *B. thuringiensis* H14 was actually the only alternative that could be used for the treatment of zones where resistance occurred. The Teknar<sup>®</sup> (Sandoz) formulation, among most of the experimental formulations tested represents the best compromise between the level of effectiveness (0.8 to 1.6 mg/l during 10 mn) and physical characteristics that enable its use in aerial treatments.

The mortality is not exposure time related. The formulation has to be previously diluted with 20 % of water for helicopter treatments. In these conditions, it can be used with success in operational treatments practically in similar conditions as Abate<sup>®</sup>. Nevertheless in order to achieve systematically 100 % of efficacy at each aerial pouring (dose : 1.6 mg/l/10 mn) the mode of application has to be slightly adapted.

In order to enable treatments in the wet season with high discharges in the rivers and to reduce their cost it appears to be necessary to increase the effectiveness of the formulation and to improve its physical characteristics.

**Key words :** *S. damnosum* complex — Onchocerciasis — *Bacillus thuringiensis* H14 — Efficacy — Operational use.

(1) Cette recherche a reçu le support financier du Programme Spécial P.N.U.D.-Banque Mondiale-O.M.S. de Recherches et de Formation concernant les Maladies Tropicales, dans le cadre des accords passés entre l'O.R.S.T.O.M. et l'O.C.C.G.E.

(2) Entomologiste médical O.R.S.T.O.M., I.R.T.O., BP. 1500, Bouaké, Côte d'Ivoire.

(3) Technicien d'entomologie médicale O.R.S.T.O.M., I.R.T.O., BP. 1500, Bouaké, Côte d'Ivoire.

L'étude de la toxicité du *Bacillus thuringiensis* H14 vis-à-vis des larves de moustiques et de simules a déjà fait l'objet d'un nombre important de travaux. Les premiers essais réalisés sur les larves des espèces du complexe *Simulium damnosum*, vecteurs de l'onchocercose humaine en Afrique intertropicale ont permis de démontrer l'efficacité remarquable des produits primaires tels que le standard IPS 78 ou la poudre R 153-78 tant au laboratoire (Undeen et Berl, 1979) que sur le terrain (Guillet et de Barjac, 1979). Le niveau d'efficacité enregistré lors des essais en rivière a permis d'envisager favorablement une utilisation opérationnelle dans le cadre de la lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest. Cette utilisation nécessite la mise au point de formulations appropriées, utilisables en traitements aériens. Un programme d'évaluation de ces formulations a été mis en place à Bouaké en Côte d'Ivoire. Vingt six formulations différentes de *B. thuringiensis* H14 ont été testées au stade IV (évaluation sur le terrain à échelle réduite, utilisation de gouttières) et cinq au stade V (essais de saison sèche en rivière). Parmi celles-ci, le Teknar<sup>®</sup>, produit par les Laboratoires Sandoz, présente un niveau d'efficacité et des caractéristiques physiques (stabilité, dispersabilité, suspensibilité...) qui permettent d'envisager son emploi dans certaines conditions opérationnelles.

La mise en évidence d'un haut niveau de résistance au téméphos chez les larves du complexe *S. damnosum* en Côte d'Ivoire (Guillet *et al.*, 1980a) et, depuis, la mise en évidence d'une résistance croisée avec d'autres composés organophosphorés dont le chlorphoxim (Kurtak *et al.*, 1982) ont fait du *B. thuringiensis* H14 un alternatif très prometteur pour la continuation des opérations de traitement dans les zones de multirésistance aux organophosphorés.

Des essais aux stades IV et V ont permis de préciser les modalités d'utilisation du Teknar dans les conditions opérationnelles.

## 1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1.1. La formulation

Le Teknar est une suspension aqueuse concentrée de spores et cristaux de *B. thuringiensis* H14. Son titre biologique est d'environ 600 unités internationales *A. aegypti* par milligramme. Sa viscosité est élevée (> à 2000 CP à 18°C) et ne permet pas une dispersion spontanée dans l'eau. Sa suspensibilité est excellente : aucune sédimen-

tation décelable en eau calme après 24 heures (Guillet *et al.*, 1980b). La formulation doit être préalablement diluée dans l'eau avant de pouvoir être utilisée dans les traitements larvicides anti-simulidiens. Les essais au stade IV ainsi que les premiers traitements en rivière ont été réalisés avec un échantillon de 5 litres reçu en mars 1980 et les autres essais avec un lot de 2 000 litres reçu en septembre 1980.

### 1.2. Évaluation au stade IV

L'évaluation se fait sur le terrain à l'aide d'un système de minigouttières. Ces gouttières, par groupes de 8 en parallèle, sont alimentées par gravité avec de l'eau de la rivière filtrée à travers une grille à mailles de 120  $\mu$ . Les larves (150 à 250 par gouttière) sont introduites dans chaque gouttière 3 heures avant le début du traitement. Tous les stades larvaires sont utilisés. La durée du traitement est habituellement de 10 mn mais peut être modifiée à volonté. Le décompte de la mortalité s'effectue 24 heures après le traitement et les larves sont comptées et identifiées au laboratoire. Le pourcentage de mortalité des larves du complexe *S. damnosum* est exprimé par groupe d'âge : stades I à III, stades IV et V, stades VI et VII ainsi que pour l'ensemble des larves. Les larves intoxiquées par le *B. thuringiensis* H14 ne dérivent pas et doivent être détachées manuellement. Pour chacune des concentrations testées, 4 répliques sont effectuées portant sur 2 jours différents. La température de l'eau est notée lors de chaque essai. La faible amplitude généralement observée ( $\pm 5^\circ\text{C}$  en moyenne) n'influe pas sur l'activité du *B. thuringiensis* H14. La concentration létale 50 est déterminée à l'aide d'un programme d'analyse log-probit sur calculatrice TI 59 et l'intervalle de confiance est donné au seuil de 95 %.

### 1.3. Évaluation au stade V

Ces évaluations consistent en des traitements sur un gîte (rapide) ou une portion de gîte au cours de la saison sèche. Le débit du bief à traiter est calculé avant chaque essai. La vitesse du courant est mesurée avec un moulinet d'hydrologie ou un tube de Pitot. Le traitement s'effectue en une bande transversale légèrement en amont du gîte (traitement en ligne). La température de l'eau est notée au moment du traitement. Il n'est généralement pas pratiqué d'analyse des matières en suspension,

ni de mesure de turbidité. Les supports larvaires naturels sont repérés avant traitement et 24 heures après. L'efficacité est jugée totale lorsqu'aucune larve ne subsiste sur les supports repérés ainsi que sur d'autres supports, et presque totale lorsque l'on peut retrouver ça et là une ou quelques larves âgées. Lorsqu'on retrouve régulièrement des larves, même en faible nombre, l'efficacité est considérée comme partielle. Seul un traitement provoquant 100 % de mortalité est considéré comme efficace. Ce type de traitement donne une indication sur le niveau d'efficacité de la formulation et son comportement en rivière. Il ne laisse rien présager de la portée qui ne peut être évaluée qu'au cours de traitements en saison des pluies lorsque le débit des rivières est important.

Des traitements de saison sèche au Teknar ont également été réalisés avec un hélicoptère équipé du système vite-vite dans des conditions exactement similaires aux conditions opérationnelles en diluant préalablement la formulation avec 20 % d'eau.

## 2. RÉSULTATS

### 2.1. Essais au stade IV

Lors des essais en gouttières, la CL 50 observée est de 0,24 mg/l de formulation pendant 10 mn (I.C. : 0,23-0,25) et la limite supérieure de la CL 100 de 1,6 mg/l/10 mn (tabl. I). La mortalité survient dans les trois heures qui suivent le traitement. Six heures après, elle n'augmente plus significativement par rapport à celle du lot témoin.

On n'observe pas de relation significative entre le temps de contact et la mortalité des larves lorsque les traitements sont effectués aux concentrations proches de la CL 100. La mortalité ne varie pas significativement, que les larves soient exposées respectivement à 10 mg/l/1 mn, 3,3 mg/l/3 mn, 1,1 mg/l/9 mn ou 0,37 mg/l/27 mn (tabl. II). Lors d'une exposition à 0,12 mg/l/54 mn on observe toutefois une légère diminution d'efficacité. Toutes ces concentrations équivalent en termes de volume de formulation utilisé à 1 mg/l/10 mn. Les jeunes

TABLEAU I

Efficacité en gouttières du Teknar (Sandoz)

Dosage en mg/l/10 mn*		Pourcentage de mortalité et (nombre de larves testées)			
		Stades 1 à 3	Stades 4 et 5	Stades 6 et 7	Tous stades
0,2	(4)	46 (376)	34,9 (375)	39,9 (554)	40,2 ± 4,2 (1305)
0,4	(4)	94,2 (309)	68,3 (265)	60,7 (468)	72,6 ± 3,2 (1042)
0,8	(4)	97,2 (285)	94,6 (258)	85,6 (436)	91,3 ± 1,8 (979)
1,6	(4)	100 (249)	100 (324)	100 (382)	100 (955)
0	(2)	0,9 (103)	2,5 (119)	1,3 (148)	1,6 (370)

\* entre parenthèses : le nombre de répliques

CL 50 = 0,24 mg/l/10 mn (0,23 - 0,25)

CL 90 = 0,99 mg/l/10 mn (0,91 - 1,1)

TABLEAU II

Relation entre le temps de contact et la mortalité des larves traitées au Teknar en gouttières  
(le rapport dosage x temps de contact est constant et équivaut à 1 mg/l/10 minutes)

	Dosage appliqué et temps de contact (8 répliques par combinaison)				
	10 mg/l/ 1 minute	3,3 mg/l/ 3 minutes	1,1 mg/l/ 9 minutes	0,37 mg/l/ 27 minutes	0,18 mg/l/ 54 minutes
Pourcentage de mortalité et (nombre de larves testées)	96,3 ± 1,2 (975)	96,9 ± 1,1 (1021)	93,7 ± 1 (2207)	94,9 ± 1,6 (708)	91,9 ± 1,8 (908)

TABLEAU III

Efficacité en rivière du Teknar (dilution préalable dans 50 % d'eau, traitements manuels)

Dosage en mg/l/10mn	Rivière	Débit en m3/s	Date	Effet observé
1,6	FéréDougouba (savane)	1,6	3/04/80	Efficacité totale et très rapide sur tout le gîte
1,6	FéréDougouba	2	4/04/80	Efficacité totale et très rapide sur tout le gîte
0,8	FéréDougouba	4,3	9/07/80	Efficacité totale sur tout le gîte
0,8	Goué (forêt)	2	7/07/80	Efficacité totale sur tout le gîte
0,4	FéréDougouba	3,8	10/07/80	Efficacité partielle - restent quelques larves âgées
0,4	Goué	2	7/07/80	Efficacité partielle - restent quelques larves âgées

larves (stades I à III) sont plus sensibles que les larves âgées (stades VI et VII) : CL 50 de 0,21 contre 0,3 mg/l ; toutefois, la limite supérieure de la CL 100 est la même pour ces deux groupes de stades (tabl. I).

## 2.2. Essais au stade V

Au cours des traitements au sol, avec une formulation préalablement diluée avec 50 % d'eau, on obtient une efficacité totale à 0,8 mg/l/10 mn soit 480 cc de Teknar par m<sup>3</sup>/s de débit. Ces essais ont été réalisés aussi bien en rivières de savane (la FéréDougouba, peuplée essentiellement par *S. soumbrense* et *S. damnosum* s.s.) qu'en rivières de forêt (le Goué, peuplé par *S. yahense*) dans lesquelles les effets observés ont été similaires (tabl. III). La mortalité des larves survient très rapidement et l'on observe à 1,6 mg/l/10 mn une mortalité totale trois heures seulement après le traitement.

Sans dilution préalable, la formulation est inefficace, même au dosage de 3,2 mg/l/10 mn. La dilution minimum pour obtenir 100 % de mortalité à 1,6 mg/l/10 mn est de 20 % d'eau dans la formulation. Durant ces essais de différentes dilutions en rivière, c'est le deuxième lot de Teknar qui a été utilisé (2 000 l). Avec ce lot, il a été impossible d'obtenir 100 % de mortalité à 0,8 mg/l/10 mn, même en diluant la formulation avec 50 % d'eau.

Le traitement hélicoptère effectué gîte par gîte (conditions de saison sèche, débit 5,5 m<sup>3</sup>/s) sur la FéréDougouba (bief de 100 km de long) dans les conditions opérationnelles (vide-vite, concentration 1,6 mg/l, dilution 20 % d'eau, 39 points d'épandage) a donné un résultat très encourageant. Sur les 9 points où les contrôles ont été effectués avant et après traitement, 7 ont démontré une efficacité totale. Sur deux gîtes, il restait çà et là une ou quelques larves âgées. Mise à part la nécessité de diluer la formulation, le traitement s'est déroulé exactement comme s'il s'agissait de l'Abate<sup>®</sup> habituellement utilisé.

## 3. DISCUSSION — CONCLUSION

Parmi les différentes formulations de *B. thuringiensis* H14 testées jusqu'à présent en rivières, le Teknar est celle qui présente le meilleur compromis entre l'efficacité antisimulidienne et les contraintes de son emploi dans les traitements aériens.

Cette formulation est quatre à huit fois moins efficace que la poudre primaire R 153-78 bien que

celle-ci ne soit en fait pas une formulation (Guillet et de Barjac, *op. cit.*). Dans les deux cas, ainsi que cela est observé avec la plupart des formulations de *B. thuringiensis* H14, les larves jeunes sont plus sensibles. Cette différence a été également notée avec des espèces néarctiques chez lesquelles elle peut être nettement plus accentuée que chez *S. damnosum* s.l. (Molloy *et al.*, 1981). Ceci n'est toutefois pas un phénomène général, certaines formulations de *B. thuringiensis* H14 à grosses particules ( $\geq 45 \mu$ ) étant toujours plus efficaces sur les larves âgées que sur les larves jeunes et ce d'autant plus que la taille moyenne des particules est plus grande.

Le Teknar est nettement plus efficace vis-à-vis des larves du complexe *S. damnosum* qu'il ne l'est vis-à-vis d'autres espèces de simuliés. Ceci s'explique d'une part du fait que *S. damnosum* s.l. est plus sensible au *B. thuringiensis* H14 que d'autres espèces (Undeen et Berl, *op. cit.*), d'autre part que les conditions de milieu varient beaucoup d'une région à l'autre, notamment le débit (traitement de *S. ochraceum* au Guatemala, Undeen *et al.*, 1981) et la température de l'eau (Molloy *et al.*, *op. cit.*). Parmi les facteurs intrinsèques, le rythme d'ingestion des particules nettement plus élevé chez *S. damnosum* s.l. que chez d'autres espèces (Elsen et Hébrard, 1979 ; Elouard et Elsen, 1977 ; Mulla et Lacey, 1976) joue très probablement un rôle prépondérant.

L'absence de relation entre le temps de contact et la mortalité des larves est un facteur favorable à l'utilisation du Teknar. En effet, dans la pratique, le temps de contact larve/formulation est la plupart du temps très court (quelques secondes).

Toutefois, en saison des pluies, dans la partie aval de la portée utile, les larves sont exposées longtemps à des concentrations plus faibles. Dans les deux cas, l'efficacité du Teknar reste satisfaisante. Cela explique qu'au cours d'un épandage de saison des pluies, la portée efficace du Teknar ait été supérieure à 20 km (Lacey *et al.*, comm. pers.). Les résultats obtenus au cours des traitements hélicoptères permettent d'envisager favorablement l'utilisation opérationnelle du Teknar. Toutefois, il s'est avéré difficile d'obtenir systématiquement 100 % de mortalité alors que cela était toujours le cas lors des traitements au sol. Si, globalement, les modalités de traitement utilisées pour l'Abate conviennent pour le Teknar, certaines adaptations légères seront toutefois nécessaires pour obtenir systématiquement 100 % d'efficacité à

1,6 mg/l/10 mn. Les problèmes liés à l'utilisation opérationnelle du Teknar, actuellement en cours, corroborent cette observation.

Les quantités de formulation à appliquer restent 3 à 6 fois supérieures à celles de l'Abate. L'utilisation du Teknar pose donc de réelles difficultés logistiques (trop faible autonomie de traitement des hélicoptères) et s'avère être très onéreuse. L'apparition d'une résistance aux composés organophosphorés fait que cette formulation est actuellement la seule utilisable dans le traitement des zones de résistance. Ceci souligne la nécessité absolue d'améliorer le niveau d'efficacité de la formulation actuelle (augmentation de la teneur en  $\delta$ -endotoxine

et meilleure fluidité). Les résultats obtenus avec des nouvelles formulations de Teknar ainsi qu'une étude sur sa stabilité au stockage en zone tropicale font l'objet d'autres publications.

# REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier les Responsables du Programme de Lutte contre l'Onchocercose dans la Région du Bassin de la Volta qui ont mis à notre disposition tous les moyens matériels nécessaires à la réalisation de cette étude.

Manuscrit reçu au Service des Éditions de l'O.R.S.T.O.M.  
le 14 juin 1982.

# BIBLIOGRAPHIE

- ELSEN (P.) et HÉRRARD (G.), 1979. — Le transit intestinal chez les larves du complexe *Simulium damnosum* (Diptera, Simuliidae) en Afrique de l'Ouest. II. Influence de la température de l'eau, de la concentration des particules et de la nature de ces particules. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 59 : 49-58.
- ÉLOUARD (J.-M.) et ELSEN (P.), 1977. — Variations de l'absorption des particules alimentaires et de la vitesse du transit digestif en fonction de certains paramètres du milieu chez les larves de *Simulium damnosum* Theobald 1903 (Diptera Simuliidae). *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd. et Parasitol.*, vol. XV, n° 1 : 29-39.
- GUILLET (P.) et BARJAC (H. DE), 1979. — Toxicité de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* pour les larves de simules vectrices de l'onchocercose. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 289, sér. D : 549-552.
- GUILLET (P.), ESCAFFRE (H.), OUEDRAOGO (M.) et QUILLÉVÉRÉ (D.), 1980a. — Mise en évidence d'une résistance au téméphos dans le complexe *Simulium damnosum* (*S. sanctipauli* et *S. soubrense*) en Côte d'Ivoire (zone du Programme de Lutte contre l'Onchocercose dans la Région du Bassin de la Volta). *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd. et Parasitol.*, vol. XVIII, n° 3 : 291-299.
- GUILLET (P.), DEMPAN (J.) et COZ (J.), 1980b. — Évaluation de *Bacillus thuringiensis* sérotype H14 pour la lutte contre les larves de *Simulium damnosum* s.l. III. Données préliminaires sur la sédimentation de l'endotoxine dans l'eau et sur sa stabilité en zone tropicale. *Doc. mimeogr. OMS, WHO/VBC/80.756*, 9 pp.
- KURTAK (D.), OUEDRAOGO (M.), OGRAN (M.), BARRO TELE et GUILLET (P.), 1982. — Preliminary note on the appearance in Ivory Coast of resistance to chlorphoxim in *Simulium soubrense/sanctipauli* larvae already resistant to temephos (Abate®). *Doc. mimeogr. OMS*, (à paraître).
- MOLLOY (D.), GAUGLER (R.) et JAMNBACK (H.), 1981. — Factors influencing efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* as a biological control agent of black fly larvae. *J. Econ. Ent.*, 74, 1 : 61-64.
- MULLA (M. S.) et LACEY (L. A.), 1976. — Feeding rates of *Simulium* larvae on particulates in natural streams (Diptera : Simuliidae). *Env. Ent.*, 5, 2 : 283-287.
- UNDEEN (A. H.) et BERL (D.), 1979. — Laboratory studies on the effectiveness of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against *Simulium damnosum* (Diptera : Simuliidae) larvae. *Mosq. News.*, 39, 4 : 742-745.
- UNDEEN (A.H.), TAKAOKA (H.) et HANSEN (K.), 1981. — A test with *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* de Barjac as a larvicide for *Simulium ochraceum*, the central american vector of onchocerciasis. *Mosq. News.*, 41, 1 : 37-40.